目录

目录 1
1. 为什么我要开始一支 IGEM 队伍 3
1.1IGEM 简介 3
1.3 IGEM 比赛流程 4
1.4 IGEM 比赛获奖要求 5
1.5 IGEM 能给你什么? 6
1.6 比赛要求 7
2. 我很想开启一支 IGEM 队伍，需要做什么准备工作 10
2.1 知识储备——分子生物学 10
基因操作 10
2.2 选定题目 11
2.3 资金准备 11
2.4 队员准备 ——如何组件一支有效率的队伍 12
3. 专访天津大学 2012 年 IGEM 金奖队员——张金来 13
4. 优秀队伍项目展示 16
4.1 2011 年伦敦帝国理工学院启发和设想 16
4.2 华盛顿大学免疫学项目 21
4.3 格罗宁根大学 27
4.4 .剑桥大学的生物荧光 E.coli 40

1. 为什么我要开始一支 IGEM 队伍

1.1IGEM 简介

iGEM 全称为国际遗传机器大赛（International Genetically Engineered Machine），是一项主要面向本科学生（在 2011 和 2012 年，iGEM 又分别增加了高中组和企业组的比赛），代表合成生物学领域最高水平的赛事，大赛每年一届，由 iGEM 基金会举办。

iGEM 的前身是麻省理工学院在 2003 年一月开始的一门为期一个月的课程，参加课程的学生被要求设计生物系统是细胞闪光。2004 年，这门设计课程演变成为夏季校内的一项比赛，有五支来自校内的队伍参赛。2005 年，这项比赛成为国际赛事，有 13 支队伍参赛。 2006 有 32 支团队，2007 年 54 支，2008 年 84 支，在 2011 年有 165 支队伍参赛，并首次出现地区大赛。同年，iGEM 基金会从麻省理工学院分离，成为独立组织，并创办第一届高中组比赛。2012 年，企业组比赛出现，同时 190 支大学团队和 40 支高中团队

参加了当年的 iGEM 大赛。

iGEM 大赛致力于促进和提高合成生物学的标准化，其要求各支参赛队伍——往往代表自己的学校——在暑假期间利用 part registry 数据库中现有的，或自己重新设计的标准化生物学模块组装表达载体，构建生物系统，并在活细胞内实现可控的表达和操纵。各团队还需对自己设计的生物系统或模块的各个性质进行测定，并注册在 part registry 数据库中，成为新的标准模块。在项目完成后，各队将会参加被称作 jamboree 的聚会，展示各自的成果，并进行交流。

iGEM 大赛具有很高的自由度，大赛对于各团队所进行的生物系统工程内容没有做限定，不过各队所构建的人工生物系统通常可以被归入以下几个大类：新的应用；食物/能源； 基础性的进步；健康/医学；环境；制造；信息处理；软件工具。

除了工程项目之外，iGEM 大赛还要求各支团队的项目中包含 Human practice 和 Safety 两块内容，目的是在项目中体现人文关怀，讨论合成生物学对于社会和公众的影响，普及和宣传合成生物学知识，并客观的讨论其潜在的安全威胁。

1.3 IGEM 比赛流程

iGEM 大赛日程如下，各支团队通常会在每年五月完成注册，并收到一个份包含所有注册在 part registry 上的标准生物模块库，以此开始运作自己的项目。各队需要利用暑假在自己的学校或实验室中实现自己的设计，并在十月的地区大赛（Regional jamboree）到来之前完成实验和网站（作为项目成果的展示）的制作。地区大赛分为欧洲、亚洲、拉丁美洲、美国东部、美国西部五个赛区，各支队伍将在自己所属的赛区参加比赛（亚洲赛区比赛地点位于香港），评出基本奖项并决定个大洲晋级决赛的团队名单。决赛（World jamboree）会于

十月或十一月在马萨诸塞州剑桥举行，决定 iGEM 最终大奖和其它各奖项的归属。

1.4 IGEM 比赛获奖要求

IGEM 的大奖跟一般的竞赛有所不同，分为金奖银奖和铜奖。这里就为大家解释下 IGEM 比赛的具体奖项设置：

铜奖

铜奖是 IGEM 比赛的末等奖，这里是给出的要求的最基本的要求，如果你认真投入，也是最容易满足的要求。

我们需要满足一下几个环节

铜牌：需要满足下面五个要求：

1.注册队伍；

2.完成“判断表格”;

3.队伍 wiki；

4.在 iGEM 比赛中展示海报，描述项目。

5.在项目中，至少用到一个新的 BioBrick Part 或者 Device，并将其提交到 iGEM 注册中心(提交方式依据注册指南)。对一个已经在注册中心存在了的 BioBrick 有新的应用和优秀的文档(显示 Part 或者 Device 功能的定量数据)也很重要。你必须向 iGEM 注册中心提交这个新的 part。

银牌：在铜牌要求的基础上，还需满足四个要求：

1. 实验验证至少一个由你自己设计并构建的新的 BioBrick Part 或者 Device。

2. 在主页上 Part’s/Device’s Registry 入口处，用文档描述 part 的特性。

3. 向 iGEM 注册中心提交这个新的 part(提交方式依据注册指南)。

4. 你的项目可能对环境、安全、道德、所有权、分享等方面都有影响。在你的项目里描述一个或多个方法证明这些或其他更广泛的影响方面被考虑并且执行了。

金牌：在铜牌及银牌要求的基础上，同时满足下面任意一个或多个要

求：

1. 改善现有的 BioBrick Part 或 Device(由另一个队伍创建或你在之前的比赛中创建过的)的功能，输入这个信息在注册表中(在主页上 Part's/Device's Registry 入口处)，创建一个新的注册页面，并提交改进的 part，并将其提交到 iGEM 注册中心(提交方式依据注册指南)。

注册表的增长取决于一个有广泛的基础可靠的零件。这就是为什么改善现有的 part 与创造一个新的 part 是一样重要的。一个“改进”可以是改善任何关于 part 的功能和易用性，使其能更好地被别人应用。例如: 通过 DNA 序列变异加强一个 part 的表达；在构建中修改一个或几个 part，以便它执行其预定的工作更好；改善一个克隆和表达载体,可以方便地让更多人用的。强烈推荐有改进前后的对比实验数据。

2. 帮助任何注册 iGEM 的团队。例如，构建一个 part，调试一个构造，或者为他们的系统建模和模拟。

3. 你的项目可能对环境、安全、道德、所有权、分享等方面都有影响。描述一个新颖的方法，你的团队已经用来帮助你和其他人考虑这些方面的设计和对合成生物学有所帮助。请证明其新颖性和这种方法供他人使用的方式。

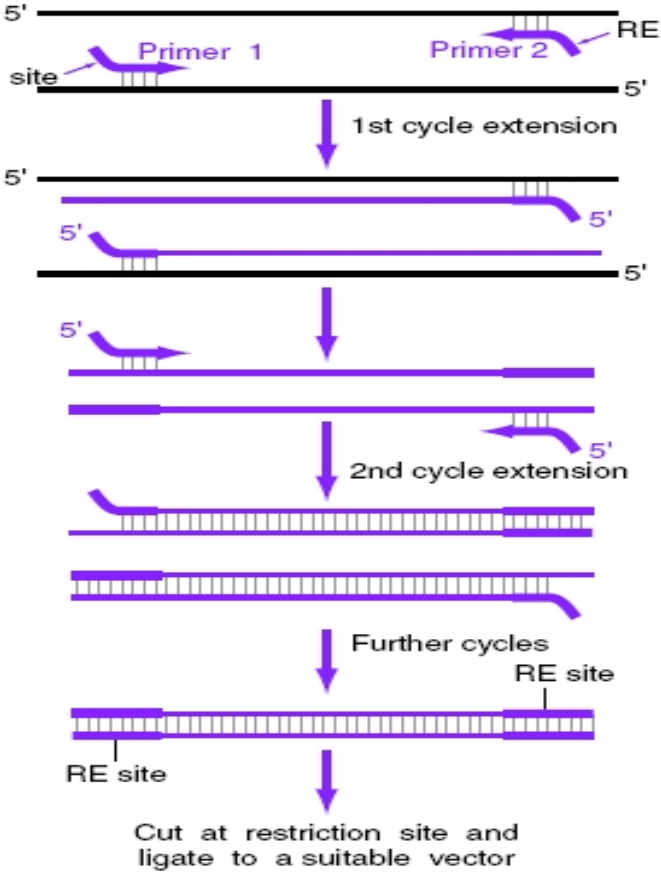
1.5 IGEM 能给你什么?

这里不是专业的学术实验室，我们完成的不是毕业论文，我们要做的就是充分的释放自己对科学的热情。我们需要的是一切有可能的想法，需要的是无拘无束的创意。如果你对微生物感兴趣，那还等什么呢!

随着合成生物学的快速发展，越来越多的大学生希望能够对这方面的知识有所了解。我们都知道数理化都有相应的竞赛，那属于生命科学人的竞赛大体就是 IGEM 吧。

大学里，有些人没拿奖却学会了如何组建团队、如何团结队友、如何提高凝聚力；有些人拿了奖也无非只是多了一张证书，多了一些荣誉，多一个保研的机会，让他上台去讲去传承他讲不出什么实际的东西。真正有用的东西是那些真是的积累，是你苦思冥想的创新精神、是你寒暑不辍的意志培养，是你代代传承的人脉积累，是你们永不放弃的患难与共！

要想做好学科竞赛，先要了解充分，如网上历届优秀作品，你们获奖的师姐师兄。接下来是要有识人之智和聚人之能组建好的团队。创新上要有大量的头脑风暴和文献积累，以及专业人士的指导。过程中要能够不断激发大家的斗志和勇气，坚持下去。最后的结果很重要，但不是最重要的，过程是你一生最宝贵的财富！这不就是 IGEM 该你带来的么？



1.6 比赛要求

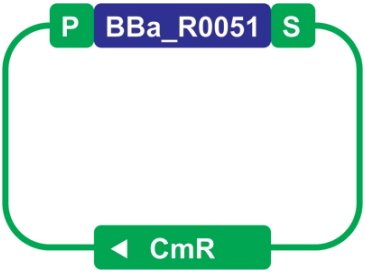
生物模块是指一段具有特定功能的 DNA 序列，例如启动子；编码蛋白的序列。一个基本的生物模块通常是不可再进行分割的。基本生物模块可以被用来组装成更复杂的模块，并在活细胞中表达和操纵。IGEM 比赛就是以生

物模块的构建为依托，鼓励更多的大学生点燃对工程菌构建的兴趣。

iGEM 大赛所依托的 registry of standard biological parts(parts.igem.org)网站是一个标准化的生物模块数据库，由 iGEM 基金会运转。iGEM 团队的项目构建基于这个数据库，同时各队也会递交自己的模块扩充这个数据库。registry of standard biological parts 拥有所有模块的样品。

利用这个数据库中的模块可自组装成在生物体内具有完整功能的装置，例如 BBa_I763007 是一个可以令细胞表达红色荧光蛋白的报告装置，其由 BBa_R0051 ——一个基于噬菌体 lambda 基因上的启动子——和 BBa_I13507——一个用于荧光报告的中间体——组装成。

registry of standard biological parts 中的模块是相互之间可以组装的，为此，其结构必须符合组装标准。例如其内部不能有 prefix 和 suffix 的酶切位点。模块通过其两端 prefix 和 suffix 的酶切位点连接在质粒骨架上。如下图：



1.7 IGEM 专业术语

报告基因 (reporter gene)是一种编码可被检测的蛋白质或酶的基因，也就是说，是一个其表达产物非常容易被鉴定的基因。把它的编码序列和基因表达调节序列相融合形成嵌合基因，或与其它目的基因相融合，在调控序列控制下进行表达，从而利用它的表达产物来标定目的基因的表达调控，筛选得到转化体。

荧光素酶

是能够催化不同底物氧化发光的一类酶，哺乳细胞无内源性荧光素酶。最常用的荧光素酶有细菌荧光素酶、萤火虫荧光素酶和 Renilla 荧光素酶。

细菌荧光素酶对热敏感，因此在哺乳细胞的应用中受到限制。

ATP 的检测应用（光传感器）

ATP 生物发光技术以测量荧光素酶和荧光素反应产生的光的数量为基础, 为广泛范围内的物质提供简单、快速、高灵敏度的分析方法。在食品卫生领域由于 ATP 生物发光技术无需培养过程, 操作简便,灵敏度高, 数分钟内可得到结果, 具有其他微生物检测方法无法比拟的优势, 是目前检测微生物最快的方法。其关键技术包括 ATP 发光试剂、样品预处理技术和发光检测仪三大部分。

GC-MS：气相色谱的流动相为惰性气体，气-固色谱法中以表面积大且具有一定活性的吸　附剂作为固定相。当多组分的混合样品进入色谱柱后，由于吸附剂对每个组分的吸附力不同，经过一定时间后，各组分在色谱柱中的运行速度也就不同。吸附力弱的组分容易被解吸下来，最先离开色谱柱进入检测器，而吸附力最强的组分最不容易被解吸下来，因此最后离开色谱柱。如此，各组分得以在色谱柱中彼此分离，顺序进入检测器中被检测。记录下来。

The Lux System

LUX 操纵子上有一系列与发光细菌荧光产生有关的基因。目前中发现了不同种类的发光细菌,如弧菌、鳗弧菌 、 弧 菌 fischeri(原 发 光 细 菌)phosphoreum, 发光细菌 leiognathi 和 Photorhabdus(Xenorhabdus)luminescens。这些物种之间有细微的差异,而差异在于基因的顺序上。在研究最多的发光细菌 V.fischeri 的发光系统上，主要包括两个翻译区域：左方区域包含 LuxR 基因，向右的区域依次包含着基因 Lux I,C,D,A,B,E,G。LuxA 和 LuxB 编码这两个基因编码细菌荧光素酶, 而 LuxC,LuxD 和 LUXE 合成可以促使荧光酶发光的底物 tetradecanal， LuxG 的

具体功能未知,它似乎是不必要的,但它的存在可以使光发射及光输出增加。由于 LUX 操作子上的这些特定的密码子,细菌可以根据它们的生理需要以及群体密度来增大或减少发光量。

2. 我很想开启一支 IGEM 队伍，需要做什么准备工作

2.1 知识储备——分子生物学

基因操作

1. 获取目的基因。方法有：

*通过特异性引物从模板（基因组或质粒）上通过 PCR 取得（如下图），引物上往往具有限制性内切酶位点，这样 PCR 循环结束后，可以通过酶切得到目标基因片段。

*使用寡核酸链通过 PCR 合成，PCR 可以将寡核酸链组装在一起。

*如果 iGEM 寄来的 Biobricks 有你需要的目标基因，可以通过限制性内切酶切割取得基因片段。

2. 从工程菌中提取质粒作为目标基因的载体，通过质粒和目标基因两端的酶切位点将基因片段连接在质粒上。

3. 将质粒导入感受态细胞（通常已商业化）。

4. 筛选成功转化的细胞。

5. 测序，核对序列，保存菌株。

6. 对于表达产物进行检测。

项目期间，团队需要在截止日期之前及时向 registry of standard biological parts 递交自己新构建的模块；填写 Safety form 回答实验安全问题；确定并递交自己项目的题目、简介以及所属类别。

同时需要制作 wiki 网站展示自己的项目成果。wiki 页面通常包括以下内容：主页；团队成员；项目；新递交的标准生物模块；建模；实验记录；安全；Attributions，但具体形式可以由各队确定。wiki 网站的制作必须在地区大赛开始之前完成。

参加地区的大赛需要团队制作可

以清晰反映项目内容的海报，并在比赛中展示。比赛时，各团队需要准备演讲和演讲所需的 ppt 以介绍各自项目。

2.2 选定题目

由于 iGEM 大赛没有对各团队的项目内容做出限定，所以项目开始前需要做的定题工作。通常的做法是，团队成员先进行头脑风暴，讨论生物工程在“新应用；食物/能源； 基础性的进步；健康/医学；环境；制造；信息处理”这几个方向中所可能产生的应用，确定几个备选方向。再分组分别在这些方向上收集资料和文献支持，设计生物系统。各小组之间定期交流，从而在暑假前确定基本方案。需要指出的是，由于有机体的复杂性以及实验结果的不可预知性，最终的参赛方案可能会与当初的设计有较大差异，方案的设计工作应该贯穿于整个实验阶段。

2.3 资金准备

首先我们要知道参加 IGEM 比赛需要多少预算，以参加香港比赛为例，我们的每只队伍需要在 4 月 15 日之前交纳 2750 美元作为注册费，若延期需要多交 500 美元，5 月 1 日为最后期限。（每年的时间和金额可能会有变动）个人注册费用为 225 美金/本科生，425 美金/其他人员，再加机票住宿约 4000-5000 人民币/人

若参加地区大赛及总决赛，团队中去参加的人需额外交注册费。（每年的时间和金额可能会有变动）

个人注册费为 225 美金/本科生，425 美金/其他人员，再加机票住宿约 15000 人。

既然我们知道了 iGEM 团队需要大量的资金支持实验、注册、参加地区大赛和总决赛，你可以寻求学校或者学院的帮助，并可以向当地的企业和其它机构寻求赞助。在学校寻找空余的实验室以支持团队假期的实验和会议，最好能够长期预订一个实验室

供以后的 iGEM 团队使用。

2.4 队员准备 ——如何组件一支有效率的队伍

IGEM 对他们的参赛者也有着严格的要求，既然这是大学生的聚会，我们首先必须保证所有的参赛者的年龄在 23 岁以下，这也是出于公平的考虑。IGEM 对他们的参赛者有着严格的规定。（详见 2013.igem.org/requirements）：

*iGEM 团队必须隶属于某一大学或学院

*团队中所有未毕业的学生年龄必须在 23 岁以下，毕业学生年龄不限

*一支团队至少要有 2 为导师指导，其中至少一位须是大学教职人员

要组建一支 iGEM，首先需要寻找队员和导师。你可以通过宣传从生物学、生物工程、化学、化学工程亦或其它任何专业需找队友，或是联系学校的有关单位招募那些寻找暑假实习机会的学生。iGEM 对团队成员人数并无限制，但推荐 8-12 名来自不同专业，拥有不同实验经历的学生组成团队。队员可以寻找自己专业的教授或是学院的院长作为导师。

另外，iGEM 允许团队成员来自不同学校，所以你可以加入临校的 iGEM 团队，亦或是向临校招募队员。

一支 iGEM 团队需要花时间一起学习合成生物学以及如何构建项目。最好是利用整个春季学期在队内开办合成生物学课程来为暑假做准备。你可以在 http://igem.org/Videos 找到一些指导性的视频。

需要提醒的一点是，iGEM 项目会占有大量的时间，iGEM 成员应确保自己能够腾出自己在春季学期的空余时间以及整个暑假来参与到团队中。

最后，在 iGEM 网站上注册自己的队伍，并及时交纳注册费。

2.5 比赛形式与内容

主办方会在每年 **4-5** 月份寄送 **DNA kit** 给各个参赛队伍，里面就是各种含不同功能片段的质粒，队伍利用这些质粒，或者自己重新构建的新组建，在暑假期间完成一个课题注意比赛内容并不仅仅是完成一个课题！还需要制作队伍网页（**wiki page**），**9** 月底 **10** 月初举行各大赛区分赛，一般会是周末加周一共三天，最后一天就会公布结果比赛时每个队伍有 **20** 分钟时间做展示，**5-10** 分钟回答评委和观众的问题；需制作一张海报，比赛期间有 **poster** 环节，向别人介绍自己的项目（**presentation** 一般会在 **2-3** 个会场同时进行，不可能全都听到，所以可以通过海报了解别的队伍）。**11** 月举行 **world jamboree**，一般在 **MIT**，形式基本与 **regional jamboree** 相似

3. 专访天津大学 2012 年 IGEM 金奖队员——张金来

J（记者下同）： 我们都知道天津大学 2012 年取得了辉煌的成绩，你能简要介绍下你们项目么？

Z（张金来）： 去年我们主要做的是正交系统，只有对应的模块同时开启的时候才能启动后续的表达，产生相应的结果。我们做的这个系统的应用价值很广，为微生物体内代谢调控问题的优化提供了很好的策略。

J：这么有价值的题目你们是怎么确立的呢？

Z： 我们的定题确实是最耗

时，也是我认为最重要的环节。我们的队伍用了半年的时间选题查文献。我们的新队员在刚开始的时候都是靠了解以往队伍的实验项目作为最初的知识储备。在假期里，每周我们都会开线上组会讨论上一周我们学习过的文献，并且请教有经验的学长学姐给我们讲解其中授晦涩难懂的内容。经验了解完了之后，我们会开始研究更深更难的科技文献，通过前沿找方向。我们把队员分成几个小组，通过组间竞争的方式，促进队员们深化我们的主题。就是这样，我们的方案一步步细化，直到最后定题。

J：作为一个工科院校的学生，你们是认识自己和理科学生的不同的。

Z：你说的这个问题很对。作为工科学生，我们需要储备很多工程方面的知识。基本上到大三才开始接触专业知识。至于实验操作，很多人更是从专业实验才开始的。不得不承认，我们与大一就开始做分子生物实验的理科生还是有一定差距的。所以我们采取了一定的策略来弥补我们实验熟练度上的不足。我们针对大二的学生开设了实验技能培训课程，帮助他们提高对生物工程上游工程菌设计知识水平，也为我们 IGEM 队伍培养了还多后备力量。其次，我们的实验采取专人负责制度，在大家都了解实验过程的前提下，根据大家的实验水平分配负责不同的实验流程，最大限度的提高了实验的效率，为最后的成功提供了保证。不过我们也有很多优势，比如我们的数学物理功底比较扎实，对建模和计算比较得心应手，参加比赛正是给了我们一个扬长避短，自我提高的机会。

J：能不能谈谈整个 IGEM 比赛你最难忘的经历

Z：那不得不说我们的香港之行。当时我负责的是 POSTER 的展示，在来来往往的各国老师和同学们展示我们的实验项目对我来说确实是一个不小的挑战。不过我永远也忘不了比赛获胜后，我和我的队友跑到港大教学楼顶吹海风的画面，摇曳的植物和清冽的海风让我突然觉得心情是如此的平静，之前再多的辛苦和付出也是值得的。

J：最后能不能总结下你们比赛取得成功的经历，给后面的队伍作为借鉴呢？

Z: 当然好，我也希望通过我的介绍给之后的队伍以灵感，鼓励他们更多的参与 IGEM 比赛，取得超过我们的更好的成绩。

我觉得比赛获得成功的最主要原因，首先我们的老师和师兄师姐给了我们对多帮助。老师为我们提供的稳定物质保证和实验大方向上的指导，师兄师姐，尤其是贾斌师兄给我的“精神食粮”也对我们的比赛起到了决定性的作用。这里也希望在实验上遇到困难的队伍能多去更实验室的老师师兄师姐多交流，甚至走出去，多去跟别的队伍交流。促进全世界的大学生的学术交流，毕竟也是 IGEM 比赛举办的目的之一。当然我们的队员持之以恒的付出和责任心也是非常重要的。其次，还是我们的选题非常符合 IGEM 的比赛要求。这是一个大学生参与的比赛，他考验的是学生们的创新能力和设计技巧，我们正式围绕着这点，花了很多的时间和力量在确定一个最合适的题目上。最后我还想强调一点，一个团队的科研能力当然是比赛成败的至关重要的因素，但是一个实验完成之后如何展示也是非常重要的一个环节。做得好更要表达得好，这才是一个高素质科研能手应该具备的潜力。这也就是说，我们

不能忽略实验之外的每一个环节，例如 WIKI 的制作和 PPT 的表达。只有对每一个细节都有精准的把控才能确保我们在最后取得成功。

J：谢谢你热情的讲述，祝愿你今后的科研道路一帆风顺

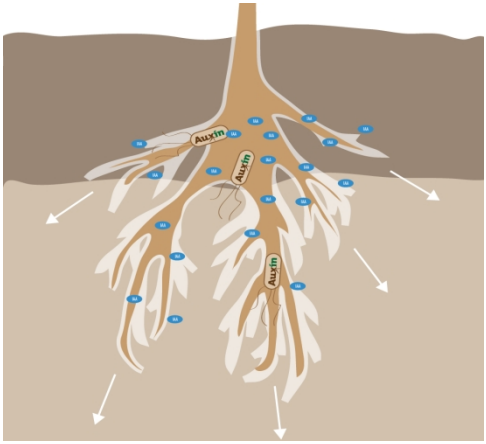
Z：不客气，我也谢谢你们给我一个机会讲述我的经验，帮助更多的 IGEM 队伍避免我的失误，提高自己的水平。

4. 优秀队伍项目展示

4.1 2011 年伦敦帝国理工学院启发和设想

背景：荒漠化是指包括气候变异和人类活动在内的种种因素造成的干旱、半干旱和半湿润地区的土地退化。在全球干旱地区，土壤流失是一个很大的问题，表层肥沃的土壤的流失最终会导致土壤荒漠化。已生根的植物的根可以帮助固定表层土壤，防止土壤流失。但是在一些干旱地区，植被根系没有机会长到足够固定土壤的程度，无法以此防止土壤流失。

地球上受到沙漠化影响的土地面积有 3800 多万平方公里，目前，全世界每年约有 600 万公顷土地发生沙漠化，这是对世界农业发展的一个重大威胁。因沙漠化而丧失的土地，每分钟就有 11 顷。



团队希望能够设计一种细菌能加速植物根系的生长，这种细菌能分泌植物所需的生长素（IAA）。用这种细菌把种子包上，种植在土壤里。当种子发芽的时候，细菌会移动到根部，进入植物体内。在根内，细菌会释放 IAA，促进植物根系生长，从而防止土壤流失。

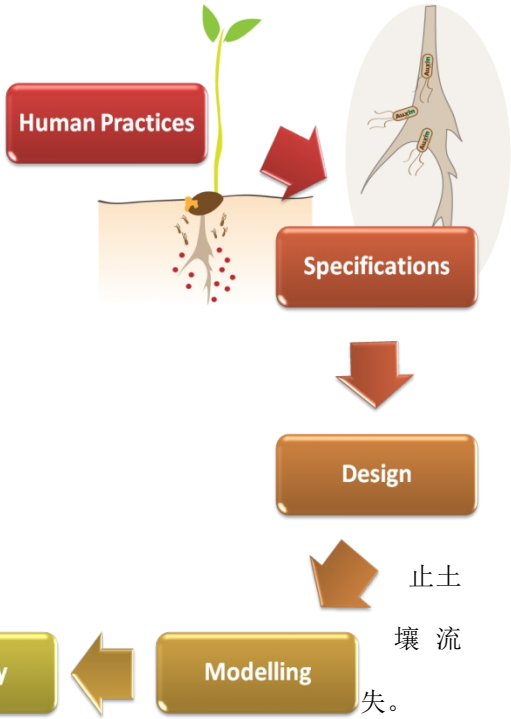
模块设计

1、植物路线（Phyto-Route）

针对底盘——大肠杆菌 E. coli）中的化学受体 PA2652 的不同表达。

PA2652 对植物根分泌液有响应，可以帮助工程菌移动到植物的根部。

一旦移动到植物的根部，它们会被植物根部摄取。这一模块有潜在的可能性作为一种定向运送天然化合物到植物根部的技术。



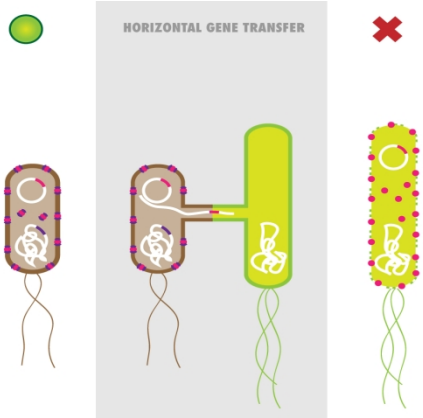
2、生长素的表达（Auxin Xpress）

生长素的表达涉及底盘细胞中生长素(IAA)通过吲哚乙酰胺途径（IAM）的不同表达。

IAA 能够促进植物根部生长，如果能将其运用在根内或者根周围，就能够促进植物根系生长，提高土壤稳定性，防止土壤流失。

3、基因保护（Gene Guard）

基因保护是一种新型的安全措施，用以最小化转基因生物（GMOs）的释放对环境的风险。



包含毒素/抗毒素机制来防止基因横向转移，防止质粒 DNA 从改进的细菌转移到土壤中现存的细菌中。

工程周期

每个模块都遵循生物合成的工程周期。由于人类活动对我们的项目有重大的影响，将人类活动作为周期的开始。依次为：人类活动、规格、设计、建模、装配、实验、应用，最终再回到人类活动。

以第一模块为例介绍工程周期

1、前述：细菌趋药性

细菌是一种单细胞生物体，是构成地球上各种高级生命体的最简单最基本的形体。他们可获知周围环境的信息，并有效的利用这些信息使自己生存下去，朝着对自己有利的环境移动。“趋向性”是指一个细胞对它周围环境的运动反应，它会改变下一步运动的方向和持续时间，细菌通过比较两步不同的环境属性来得到所需要的方向信息，如果这种反应与化学物质的浓度（如引诱剂或驱除剂）有关，就叫做趋药性。

在第一阶段模块设计中就要充分考虑到大肠杆菌的趋药性。

图 4 基因保护

2、人类活动

人类活动对整个工程影响很大，会在很大程度上影响设计。因此，帝国理工 IGEM 团队走访、请教社会科学家和非政府组织（绿色和平组织等），了解项目的可行性。同时，他们还请教了植物学家和生态学家，了解项目的细节及潜在影响。

根据走访调查的结果，团队总结了需要被考虑到的三个方面：选择合适的底盘；基因保护——新型的限制装置；法律相关问题。

3、规格和设计

针对规格和设计的问题，主要考虑到以下四个方面：

①对根的趋向性：对根的分泌物敏感；

②根部有能力摄取细菌；

③外源基因在底盘细胞中的有效

表达；

④构想尽可能的模块化。

4、趋药性路径建模

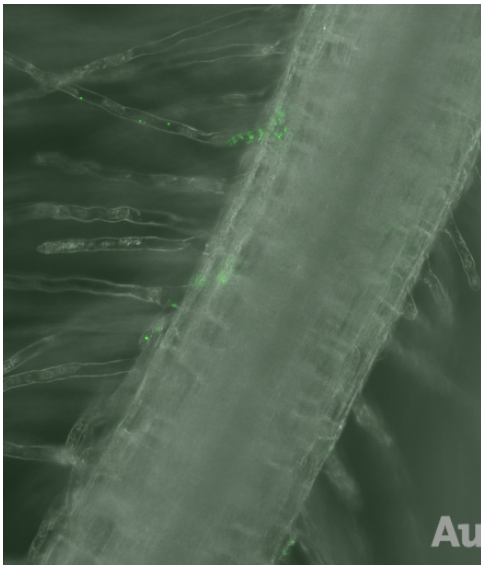
化学感受器和 CheA 蛋白、CheW 蛋白形成稳定的三元复合物，形成信号从而控制鞭毛旋转方向。

细菌能够觉察的化学引诱物临界浓度 $1x10^{-8}$ M，饱和浓度 $1x10^{-5}$ M，使细菌对化学引诱物的反应效果降低。

5、实验

为了最小化支出和时间，小组把 PA2652 分为两个部分。使用 MlyI 限制性内切酶作为工具酶。当 PA2652 浓度不同会影响速度，且浓度较高的 PA2652 在苹果酸酯中时速度可达到最大峰值。

团队成果



上图为共聚焦显微镜下观察到的工程菌在拟南芥中表达出的荧光蛋白（sfGFP）。

实验结果

1、成功表达出 IAA，从大肠杆菌中，观察到它对拟南芥的作用。拟南芥产生黄色荧光蛋白(YFP)作为回应；

2、大肠杆菌移动向苹果酸盐（一种根部分泌液），工程菌被植物根部摄取；

3、荧光蛋白载体成像，根据这个方法，还能观察到根中底盘细胞的代谢；

4、定性四种荧光蛋白载体的耐热性。

WIKI 分析

帝国理工的 wiki 很值得一提，因为实在是有很多出彩的可以借鉴的地方。首先，首页就给人眼前一亮的感觉。帝国理工的 wiki 首页以植物的绿色和棕色为主，以我的理解是代表了他们的项目主题：植物生长素。

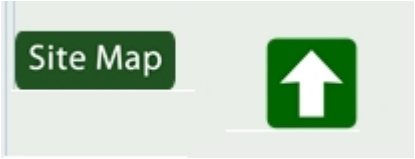
首页中最显眼的部分是一个很精致的 flash，从选图到效果制作都很精美，其实这样的 flash 做起来并不难，但是很少有 wiki 里会用到。最值得一提的不是 flash 本身，而是它上方的一段说明：“If you cannot view the

photo gallery below, please click here to view our alternative home page or download the Adobe Flash Player here.”，给无法看到这个 flash 的游客两种解决方案：1、进入他们以单张图片陈列的页面，来观看无法用 flash 播放的内容；2、下载一个可用的播放器。这充分体现了设计者的缜密的思维，和一种人文关怀。Wiki 中之后的每一段视频或者 flash 都附带有这样的提示。

在 flash 的右边由一个音频播放器，里面的音频是 IGEM 颁奖的录音以及团队展示录音，我认为这种构思相当好，不过音频在处理上不够完美，音频中有明显的电流杂音。

页面下方是一些寄语、评价以及赞助商，整个页面简洁而有特色。

要指出的 wiki 的另一优势，也是充分体现了它的人性化的一面就是页面左右下角的“Site Map”和“↑”，这两个不起眼的小链接，却能体现设计者的细心，一个能够链接回到主目录，另一个能够回到页面顶端。



从内容上，帝国理工 wiki 的大类包括：生长素项目、成果、人文实践、其他、团队，内容设置清晰明确，充分结合图文以及 flash 进行说明。

同时，在一整个项目单元内，采用下拉式展开页面，既美观，又能有效的节省空间，便于阅读者分块阅读。避免了因为文字过长引起的页面过于枯燥无味。

4.2 华盛顿大学免疫学项目

背景：华盛顿大学的IGEM团队意识到由于传统抗生素的滥用致使致病菌产生很强的抗药性同时也导致肠道有益菌受到破坏的问题,想到运用合成生物学手段解决这些问题。利用合成生物学的工具,他们设计、建造和测

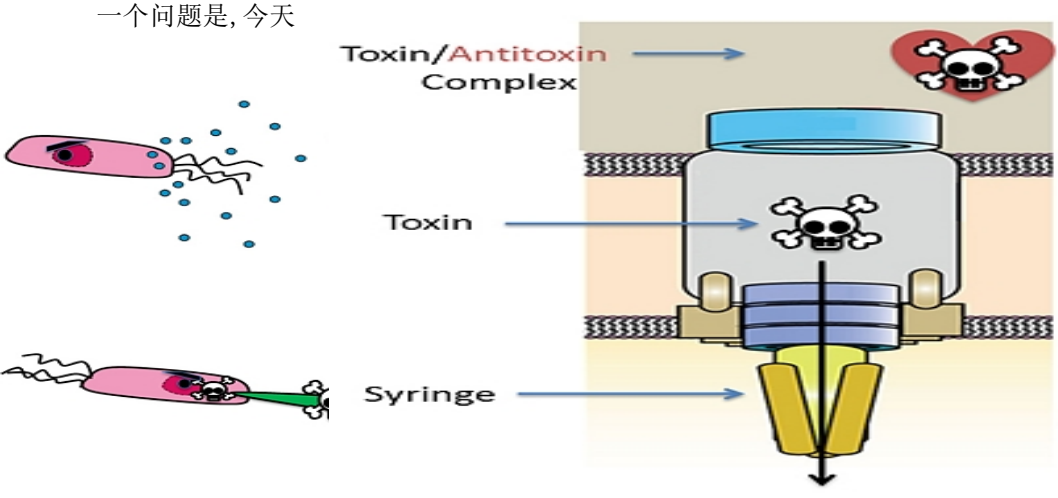
试了两个抗感染的两大类型细菌的新系统——革兰氏阳性和革兰氏阴性系统。第一个项目的目标是炭疽杆菌,它是一种革兰氏阳性病菌，可以引起炭疽。他们重新设计了一种可以清除病原体表面防护外壳的酶,从而使其无力防御免疫系统的攻击；在第二个项目,他们重新设计,并移植了一个能够对抗革兰氏阴性细菌的蛋白质分泌系统进入大肠杆菌。这个系统是一个以革兰氏阴性致病菌为特定目标的可控的新型模型。

一． 革兰氏阴性细菌项目

利用小分子抗生素变得过时了,因为随着时间的流逝，病原体不断进化发展出对现有抗生素的抵抗力。另一个问题是,今天的抗生素是没有区分致病性和非致病性细菌,它们同时杀死了两种细菌。有许多细菌在肠道是有利的:他们帮助身体消化、生产维生素，如维生素K,依靠竞争生长排除致病入侵者。通过限制剂量有利用减少致病菌发展为更强抗药性的机会，并且也可以减少对有益菌的伤害。这个项目的目标是利用天然细菌武器杀死其他细菌：VI型分泌系统/毒素注入系统加入到一种益生菌,当有特定的革兰氏致病菌存在时可以被激活并发挥作用。

第 VI 类分泌系统

Type IV分泌系统(T6SS)是一种发现在许多革兰氏阴性细菌(如绿脓杆菌)的蛋白质注入机制系



统。T6SS的行为就像一个矛一样刺穿细胞膜。穿刺后,“矛”提供了一个通道,毒素等蛋白质可以进入发到被穿刺了细胞。我们想把这个系统为模型,用它来目标细菌革兰氏阴性细菌。由于T6SS无法刺穿革兰氏阳性细菌或真核细胞的细胞膜,所以华盛顿大学的IGEM团队想到用它做模型,用来针对革兰氏阴性细菌进行穿孔,而不会伤害到对人类细胞有用的革兰氏阳性菌。另外大肠杆菌是一个不包含T6SS细菌物种。因为大肠杆菌是服从的遗传变化,并且很容易在实验室里培养,是一种常见的存在于肠道的革兰氏阴性细菌,所以将T6SS导入到大肠杆菌很适合。其结构图可参看图2.

毒素抗毒素系统

在铜绿假单胞菌中, Tse2是一个由T6SS系统分泌到革兰氏阴性细菌的有害蛋白质。当在多种原核和真核细胞内表达时,Tse2已经被证明可导致细胞死亡。通常情况下,Tse2和Tsi2形成一个复合物,从而不表现出毒性。也就是说Tsi2是一个和Tse2共同表达的蛋白质,可以作为抗毒素存在。如果将Tse2分泌到目标细胞,使两种蛋白质分开, 那么Tse2可以使靶细胞死亡。通过控制Tse2的表达和Tsi2的生产并且在有致病菌存在时开启,他们就可以实现对致病菌的专一性选择,而这有助于解决之前提到专一性和细菌抗药性的问题。下图为该系统的示意图。

将 T6SS 基因转移到大肠杆菌中（使用质粒）

T6SS由分布在不同的几个操纵子上的23个基因组成。通过标准的限制消化克隆技术捕捉和移动这些基因被认定是不切实际的。华盛顿大学的IGEM团队发现可以使用他们一直在用的fosmids(实质上是大质粒)解决铜绿假单胞菌菌

株(PAO1)的基因问题。因为他们发现一个fosmids中包含了所有必要的并且是组织好的T6SS基因，只是分布在两个不同的操纵子上。他们将fosmid成功地转移到大肠杆菌中，但是还不清楚是否可以在大肠杆菌中表达，因为控制基因T6SS表达的启动子来源于铜绿假单胞菌。为了验证T6SS基因的表达，他们使用抗体免疫印迹检测分泌系统的一个关键蛋白质Fha1的分泌情况

检测 T6SS 在大肠杆菌中的表达

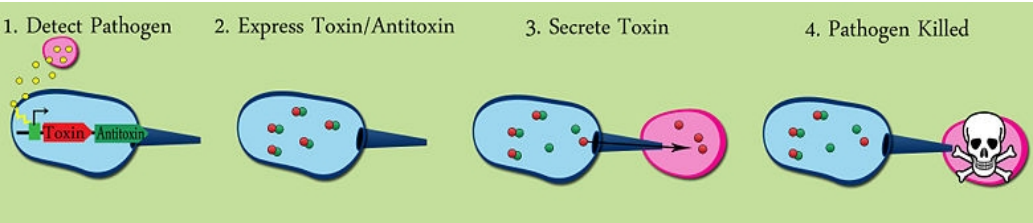
那么如何才能使T6SS基因在大肠杆菌中表达呢？他们选择重新设计了一个启动系统，取代原生绿脓杆菌的启动系统。经过论证，他们选择了一个双向T7启动子，因为它可以促进5′和3′方向的转录，且T7研究得很透彻，可以在大肠杆菌中高效表达。

5. 设计毒素/抗毒素系统的调节方式

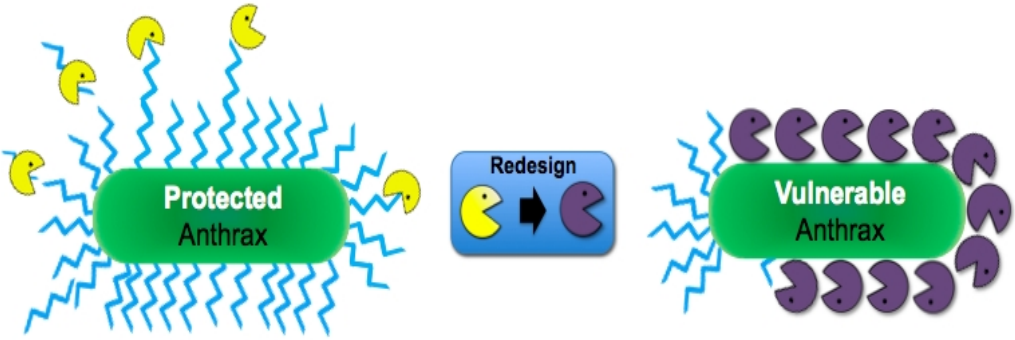
他们选择从T6SS的调节系统中分离出毒素与抗毒素的调节系统(Tse2. Tsi2)，因为T6SS中有很多容易诱导的蛋白质。新型的Tse2 / Tsi2生成调节回路的目的是只在必要的时候激活阻遏机制使大肠杆菌产生的抗生素失活。如果生产Tse2益生菌系统按照既定的形式分泌产生抗生素，将影响天然肠道菌群的生长。此外，天然肠道菌群可能产生对Tse2的耐药性并传递给潜在的革兰氏阴性细菌。基于这个项目的目的，他们决定改造出一种只有在检测到特定的致病菌时才表达出Tse2毒素，并且可以在同一个操纵子上表达出Tsi2的有益菌。

6. 在检测到病原体时诱导毒素基因表达:概念证明

为了激活 Tse2 基因的表达以回应一种病原体，他们需要一种可以特殊识别致病菌分子的启动子，同时同样的刺激信号也可以使 Tsi2 基因表达。作为一个概念验证，这个项目使用弧



菌 *Vibrio fischeri* 中的 LuxR-pLux 转录因子-启动系统来调节 Tse2-Tsi2 表达途径。pLux 启动子的表达与与细胞密度相关，这被称为为群体感应。同样的道理，当改造后的的益生菌检测到一个革兰氏阴性病原菌的特定分子(由高速逻辑建模)时,可以导致 Tse2 基因（一种有毒蛋白)和 Tsi2 基因的表达(抗毒素)。接着 T6SS 攻击病原体,刺穿其细胞壁，并将 Tse2 分泌到革兰氏阴性病菌中,杀死病原体。



8.实验结果验证

为了确认拥有重组启动系统的 T6SS 可以在大肠杆菌中表达,他们将重组的 fosmid 转入一个在有 IPTG 存在时可以产生 T7 RNA 聚合酶的 T7 表达菌株。然后对细胞提取物进行免疫印迹实验，检测 Fha1 的存在,以此来验证 T6SS 表达的蛋白质是否存在。在诱导的条件下 Fha1 蛋白得到了表达,而不是在非诱导条件下。这表明重组质粒的成功以及在 T6SS 蛋白在大肠杆菌系统中得到了表达。

二． 新型炭疽热治疗方案

炭疽热是一种由炭疽杆菌感染导致的致命的疾病,它可以通过摄取、吸入或皮肤接触孢子进行传播。这个病是不会传染的,不能从一个受感染的生物转移。其致命性的最主要的原因之一是致命炭疽杆菌病原体能够逃避人体免疫系统的识别与抵抗。细菌使

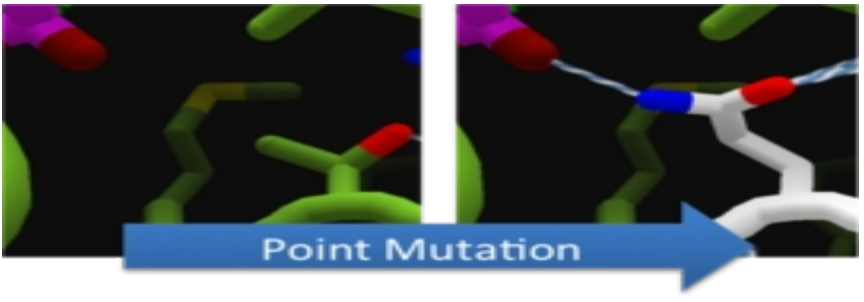
自己包裹一个poly-γ-D-glutamate(PDG),使自己拥有抗吞噬的能力。毒性保护PDG外壳由炭疽杆菌的一系列酶合成而成，其中关键的一步通过CapD酶,将PDG长链的部分输送到细胞外，并且通过转肽作用加入到肽聚糖层中去。在整个过程中，CapD也有能力催化水解PDG,但是速度要比竞争转肽作用反应慢得多。因此,华盛顿大学的IGEM团队希望制作出变异的CapD蛋白有倾向性地使转肽作用反应降低,同时水解外衣的反应加强。换句话说，如果可以得到一个编码水解反应的CapD酶的变异基因（没有转肽作用），那么给感染的个体打一剂量就可以治疗了。

1. 炭疽杆菌潜在的武器——CapD

目前基于豚鼠模型的研究显示CapD的过量表达会破坏细菌的外壳,进而消除炭疽杆菌的免疫能力。CapD是一种天然的转肽酶,有利于氨基酸结合到PDG上。然而,CapD作为一种水解酶,可以有效地与水反应,因为人的血液中含水量很高。如果一个突变的CapD可以改造为一种极其有效的水解酶,那么就可以在血液中使入侵的炭疽杆菌数量降低，失去致病能力。

2. 使用 FoldIt 使 CapD_CP 成为一种更好地水解酶（突变）

第一种类型的突变是通过降低活化能增加水解能力。为此,他们创造了可以通过生成氢键与底物的过渡状态相连的点突变。第二类型的突变与活性位点的开放性和极性有关。为了实现着一点，他们将活性位点变异成一个更加开放以及极性更加强的位点，所以水



分子可以进入使水解反应更加容易进行。

在这些突变过程中，他们使用了一个叫FoldIt的计算机程序预测蛋白质结构和组成的变化对蛋白质稳定性的影响。FoldIt提供了一个可以操作的3 D蛋白质晶体结构图像。操作功能包括点突变、插入、删除,重新包装侧链(旋转异构体优化),骨干运动,然后FoldIt会评估蛋白质的稳定性。

项目分析：

这是一个免疫学项目，感觉很有新意：两种不同致病菌的治疗方案来源于不同的思路。总的来说，他们借鉴了很多之前 IGEM 团队的经验，原理也很简单，如他们在革兰氏阴性菌的项目中也用到了毒素与抗毒素系统。他们创造的有特异性的蛋白质转移系统是一大亮点，在以后的项目中完全可以借鉴。

在这里我想到一个环保的项目，就是之前提到的水污染的项目：如何杀死蓝细菌？感觉完全可以借助这一系统来实现对革兰氏阴性的蓝细菌的专一性杀死。

4.3 格罗宁根大学

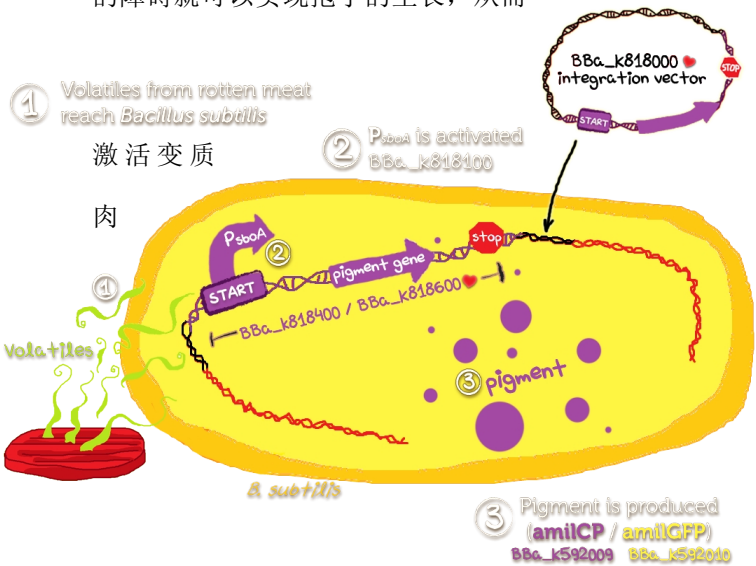
实验背景:由于过期具体时间的不确定导致了每年有三分之一的食物被浪费倒掉,在这样的前提下,他们试图设计一个可以检测肉类变质的系统,该系统是通过当肉类变质时引起色

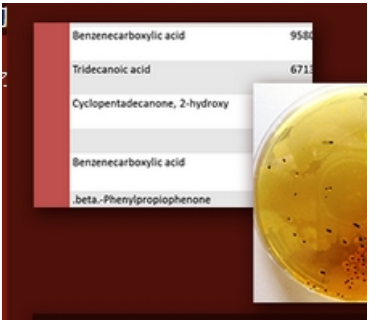
素的产生而工作的.具体为变质肉类的挥发物引起 PsboA 启动子的表达.实现色素的释放.

格罗宁根大学的团队试图建立一种可以评估肉类可食性的理论,也就是他们所做的这个 food warden,主要是使用枯草杆菌的工程菌来指示变质肉的挥发物,其使用用微阵列分析的启动子来引发色素编码基因,这种启动子在变质肉挥发物的存在时可以被显著调节，其表达可以被肉眼观察，在这个系统的安全使用上面，他们将工程菌的孢子放在半透膜中，当然，里面也有校准了数量的营养物质，破坏两者的障碍就可以实现孢子的生长，从而激活变质肉传感。

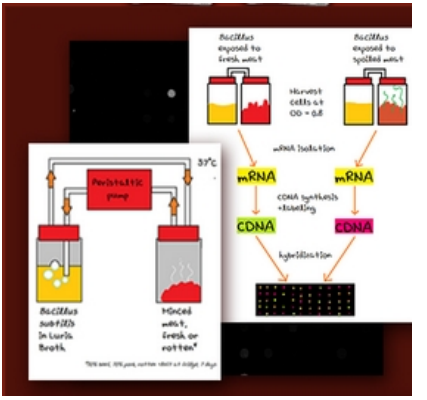
1. 实验结果

设计测试了 sticker，在这种 sticker 中细菌被包含在膜内而挥发物可以通过。他们用一个 model 来获得如何更好调节枯草杆菌孢子的增长



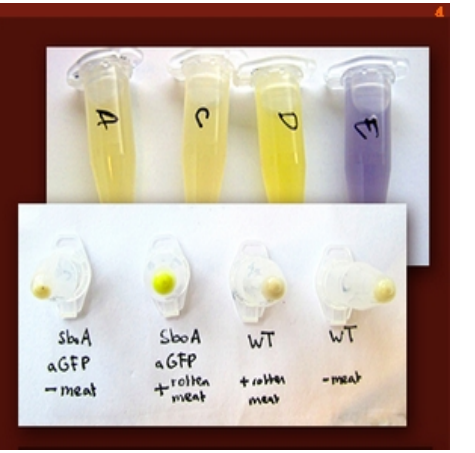


探讨了变质肉的定义，确定了变质肉中的各种化合物

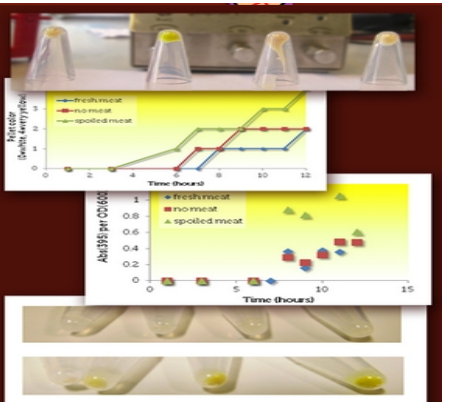


用转录分析确定了变质肉传感器

第一次用 biobrick 克隆枯草芽孢杆菌，可以很轻易的检测 biobrick 的兼容性，大肠杆菌的兼容性，以及枯草芽孢杆菌染色体的稳定插入情况。



使 AmilCP 和 AmilGFP 适合在枯草芽孢杆菌中表达，有利于在 biobrick 团体中的枯草芽孢杆菌使用者



开发一种可以检测肉变质的枯草芽孢杆菌结构，其输出一种肉眼可见的黄色或紫色染料。

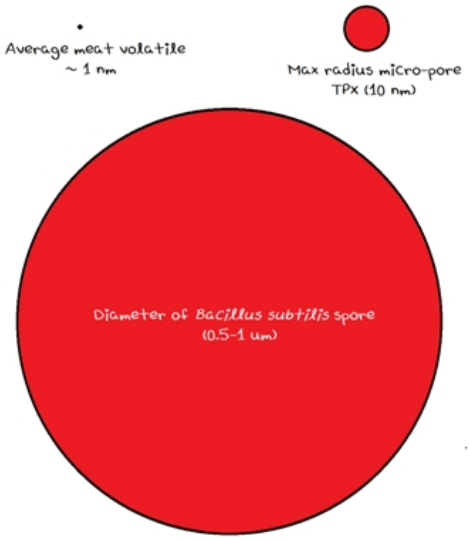
2. 实验步骤

Sticker

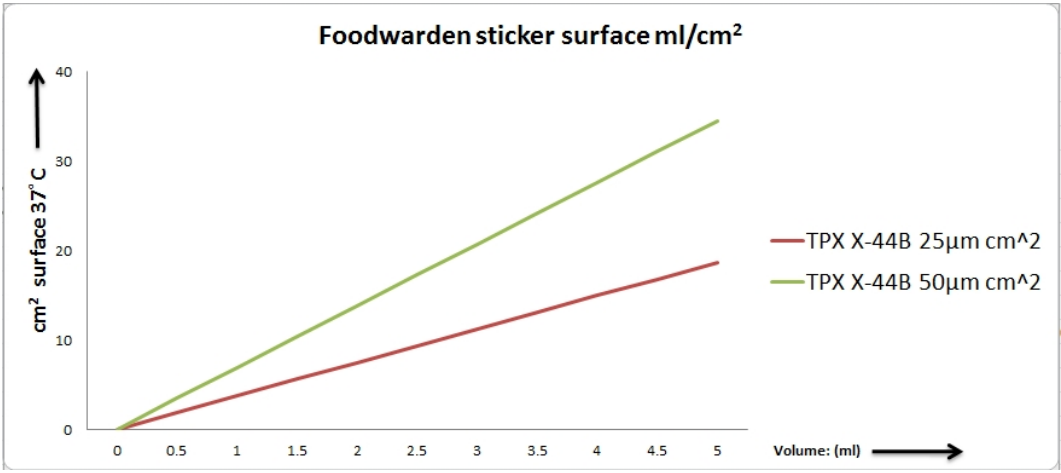
做 igem 时选择合适的细菌底物是什么重要的，通常情况下我们使用最多的是大肠杆菌，而在这个课题中，他们经过不断的讨论的得知，因为枯草杆菌具有形成内孢子的能力，所以它可以作为此课题的底物。其内孢子可以保证其在极其恶劣的环境下通过条件适宜时的发芽而保持依然存活。但是，选择了合适的细菌，在这个课题中，有一个迫切需要解决的问题就是如何将细菌和食物分开，他们便想到了设计一种可以分开两者但又允许其部分交流的膜。我想，这也是受半透膜的启发吧。他们的设计是这样的，由上面的图也可以观察到，这种膜有两层，内仓装有营养物质，外仓是孢子，通过外力挤压打破两仓之间的障碍就可以实现孢子的生长。 他们使用 TPX®聚合物作为膜的材料。其优点是：便宜，结实，并且可以通过挥发物，第三点是选择的关键。对其孔的半径的分析可知其对于挥发物和细菌的透过性。 Wiki 中后面是设计此 sticker 的一些必备条件。比如材料，尺寸，外观等等。

对于 sticker 的设计，他们使用的 PDCA 循环。

PDCA 循环又叫戴明环，是美国质量管理专家戴明博士提出的，它是全面质量管理所应遵循的科学程序。全面质量管理活动的全部



过程，就是质量计划的制订和组织实现的过程，这个过程就是按照 PDCA 循环，不停顿地周而复始地运转的。



他们还提出了几个问题：谁是对这个 sticker 的消费者？--定期卖肉的人。需要给客户提供什么样的价值？--取代“按日期使用和销售”系统。他们想开发一个新产品，使得客户可以通过视觉或嗅觉提前发现肉的变质。

他们有三个计划。

1、要做一个 sticker 需要怎么做。a,打破之前需要产生明亮的光。b 没人都可以理解光的含义，即使用交通灯的颜色。

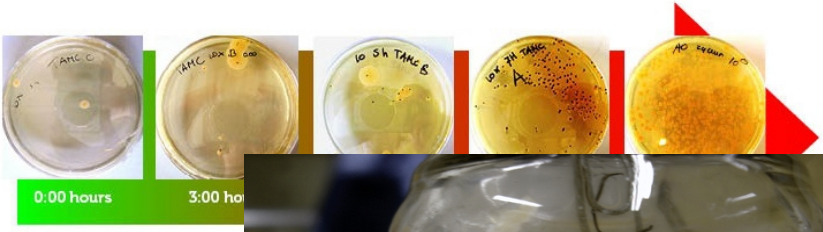
2、要容易激活。

3、保证其选择通过性。

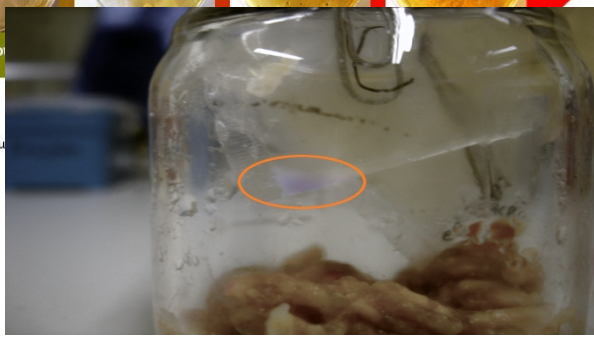
做出这样形状的透明塑料袋之后，当然他们还对此 sticker 的可行性做了测试。

之后他们又进行了重复试验，选择出最好的结构。在材料上，对于外仓，应该有足够的韧性来支持里面的细菌并且可以抵抗用户给的外力。应该由光材料制成，并且表面平坦利于抓握。他们选择了 TPX

What happens if you leave your meat outside the fridge?



TAMC counting: growth of a 1000x dilu



对于内仓，要在需要的时候易破，他们便选择了聚氯乙烯

基于以上讨论，他们用食品薄膜做出了样品，在内仓中装 LB 培养基以及空气（提供氧环境），外仓中装孢子。

对膜的研究作出图：

绿线代表 TPX 为 50um，红线代表 TPX 为 25um，横轴为体积，纵轴为对应所需的表面积。

斜率为每毫升的体积对应的表面积，做出的不同体积的 sticker。

观察内仓破裂之后细菌的生长情况

他们的实验结果表明 sticker 内部的条件要及其适宜的时候细菌才会生长，为了测定这种条件在 sticker 中可以实现，他们做了一个小实验：也是像之前一样把两者放在不同的仓，第二天打破内仓，在室温保持一天，可以观察到枯草杆菌的生长，即证明了存储和激活。

测试其在变质肉中是否可以产生色素

为了测试贴纸不同数量的氧气供应,他们建立了两个系统，一个是氧气直接进入罐中，另一个是把灌放在不同的地点，自然获得氧气，这样得到的氧气和上一个比严重不足。每个系统是由两个泵组

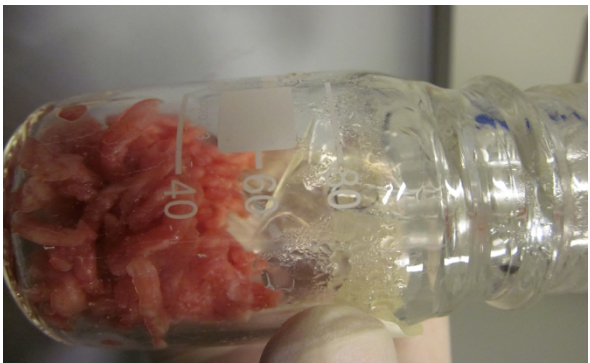
成。一个泵是用于肉挥发物的正常流动。另外的泵是用于注入新鲜空气进入瓶中。泵可以保证每 15 分钟供应氧气 3 分钟。

他们还测试出了 25um 的效果比 50um 的更加好。显色所需时间更短。

他们在此实验中发现氧浓度对于细菌的生长有很大的影响，他们便着手于对氧浓度的研究，即使用克拉克电极吸取瓶内氧以测试其浓度变化，因为他们的起始氧浓度为 21%，所以，他们测定在 20℃和 37℃下氧的浓度变化如图所示

volatiles

他们使用的是当地超市的肉，由 70%的猪肉和 30%的牛肉，图中是肉变质的情况：



Wiki 中还出现了欧洲式幽默，他们认为，对肉类爱好者，要把这些肉作为科学研究材料可是个不小的牺牲。

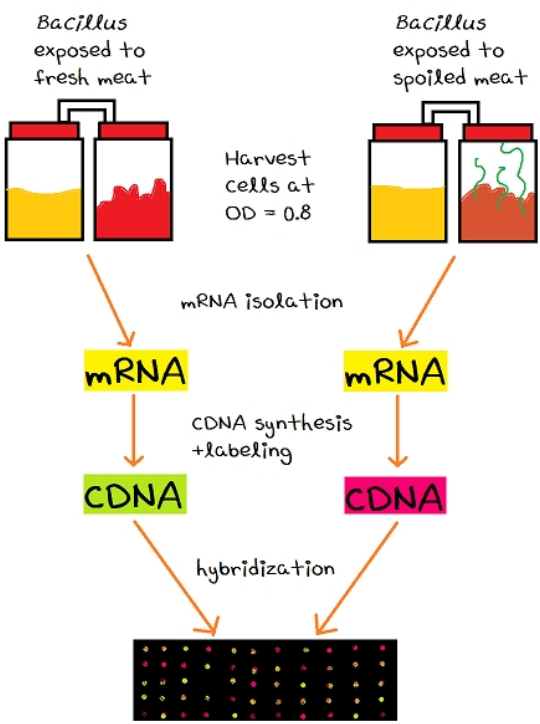
他们使用了气相色谱质谱联用（GC-MS）来测试变质肉的挥发物，他们学校有很多的 GC-MS 设备和一个大型的商业数据库，他们便可以用它来　识别质谱仪做出的 GC-MS 的数据，从而确定挥发物的成分

他们把肉分散成有机溶剂，以确保更多的化合物可用于测量。此外，他们使用了液体注入法，而不是顶空法，

其确定的结果和参考的 80%符合，并得到预期不会出现的十三烷。

sensor

他们花了很长时间去寻找变质肉的传感器。通过一个文献，他们 alsT 启动子作为启动子，这是在枯草杆菌中由 TnrA 所控制的基因，TnrA 是由氮源控制引发



的基因，其控制一系列基因，这些基因中 alsT 是被镇压的，只有在氮源很少的时候 alsT 被激活。他们猜测 TnrA 的减少会引起 alsT 的激活，在变质肉中的比如氨这样的氮源可以引起 TnrA 的枯竭，促进 alsT 启动子的激活，进而促进 pBAD 启动子的激活。当然，这只是他们的猜测，他们建模对其进行了验证，实验结果并不理想。也就是用氮源的方式被排除，

团队比较了在某一个时间点,在定义的条件不同的转录水平的基因(转录组)的枯草芽孢杆菌。他们得到了枯草芽孢杆菌的信使核糖核酸。,信使核糖核酸用逆转录酶由复制得到。一半的 cDNA 被贴上了绿色染料,另一半用红色染料。两种情况的 cDNA 是带上微阵列片:一个红色的,另一个绿色。在这些片中,小部件(探针)的 DNA 会处于已知位置。杂化的 cDNA 与 DNA 探针。由于彩色标签,他们可以定义在绿色条件哪些基因转录,在红色的条件哪些基因转录。在每张片有三个复制来增加数据的意义。他们在两种情况下使用第二个幻灯片交换了绑定到cDNA的染料,以排除在染料绑定和验证数据中可能存在的错误。

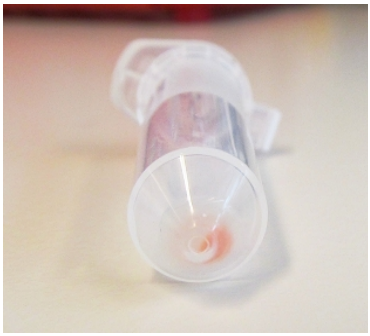
pigment

我当时看这个实验的时候就想到为什么不使用荧光物质呢?他们在这里也做了回答也使我恍然大悟,的确,这是一个消费者使用的东西,不可能让每个人都有一台荧光显微镜吧。要易于观察,色素的确很好。基于这样的想法,他们使用了几种注册了的 biobrick:

BBa_K274100，BBa_K592009，BBa_K592009 作为色素的表达基因。

Lycopene (BBa_K274100)

珊瑚红颜料 CrtEBI 生物积木 (BBa_K274100),由 2009 年剑桥团队创建,作为他们挥发性检测装置的一个报告基因



AmilCP (BBa_K592009)

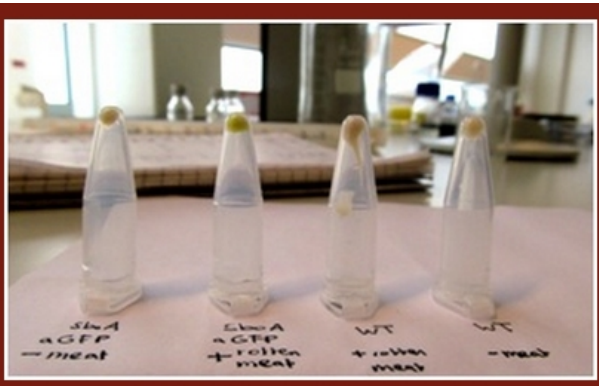
AmilCP 是蓝色/紫色色素蛋白生物积木 (BBa_K592009),由瑞典乌普萨拉团队创建,在他们的挥发性检测装置中被作为报告基因使用。

AmilCP (BBa_K592009)

AmilGFP 是一个黄色的色素蛋白生物积木 (BBa_K592010),由瑞典乌普萨拉团队创建,在他们的挥发性检测装置中被作为报告基因使用。

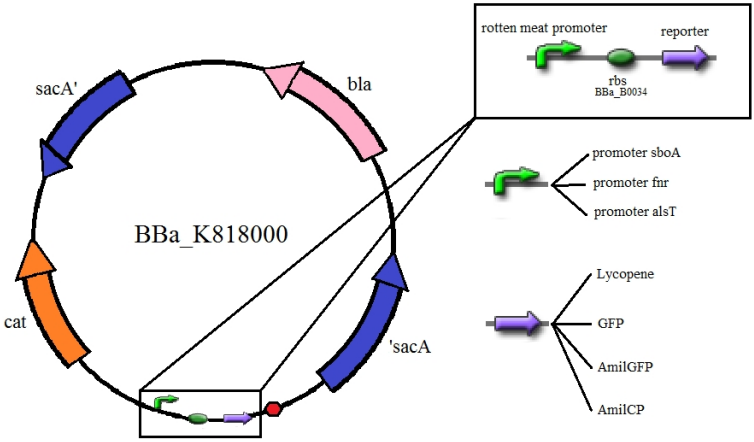
construct

当枯草杆菌感觉到变质肉的



(left) From left to (right) Wildtype grown without meat, *B. subtilis*(sboA-AmilGFP) grown without meat, Wildtype grown with spoiled meat, *B. subtilis*(sboA-AmilGFP) grown with spoiled meat, two jars of spoiled meat.
(right) Pelleted cells after 16 hour growth with/without spoiled meat.

挥发物的时候，变质肉的启动子就会变得活跃，进而允许下游基因的表达，他们就选择把色素基因放在启动子以下，那么启动子被激活的时候色素就会被产生出来。如下图



他们用枯草芽孢杆菌支柱(BBa_K818000)和氯霉素抗性基因的染色体的集成和抗生素筛选。这个支柱也有大肠杆菌复制起点,所以它可以在大肠杆菌中被放大。

在有变质 sboA-AmilGFP 在培养于 LB 培养基的枯草杆菌中的表达非常的弱，他们猜想是由于启动子的泄露造成的。便采用了和微阵列中一样的变质肉挥发物来测定表达，首先，在有变质肉和没变质肉的培养基中都接种了 inoculated B. subtilisSboA-AmilGFP 和 B. subtilisWildtype，结果是，枯草芽孢杆菌的菌株,sboA-AmilGFP 在变质肉中出现明亮的青黄色(甚至可见液体),而同一品种在没有肉的培养基中只显示非常微弱的黄色。如下图：

最后也比较了 sboA-AmilGFP 在新鲜肉和变质肉中的情况，结果是虽然新鲜肉挥发成份,他们的设备中仍然产生黄色菌株。变质肉的挥发物颜色变化更快，数量更大。

2.6、kill switch

对于细菌使用结束后的安全问题，他们决定使用 Violacein 色素(BBa_K274002),这是一种枯草芽孢杆菌有毒的色素。色素生产后,使用者就知道肉已经开始破坏并且随后的细胞由于色素作用自杀。然而,如果颜料还未产生,例如当鲜肉，细胞将继续生活。

项目分析

他们的 wiki 做的很漂亮也很有特点,与其他团队不同,他们列出了自己获得的荣誉以及金牌清单,从这份清单中就可以看出他们的确做的很棒,特备是 GOLD 里面,只需要完成一项也就能获得金牌,但是他们却完成了五项,而且还有这么多的赞助商,刚进入 wiki 就可以感觉到这应该是一个很不错的研究,他们的课题也和实际结合的较好,具有较高的实际利用价值.和其他不同，他们的 sticker 做出来就完全是个可以投入市场获得利润的专利产品，这点也和 igem 的目的有直接的关系，就是为了促进科研进而造福于人类。我在看的时候就完全想到了有一天我把这样的一个 sticker 买回去放在肉旁边的情景，所以说，这是项很成功的研究，我想这也是他们获得 champion 的一个重要原因吧。

这是一项研究点很多范围很广的研究，他先后研究 sticker 的结构，挥发物，传感器，色素，基因，设计结构等等，可以说，这已经不仅仅是基因层面的一项研究了，更像是结合多学科的一项发明，我没猜错的话，这样一项研究，和之前的相比，他们付出的心血更多，查阅的资料也更加的丰富。当然，研究之后总也能看到他们的乐趣，比如没用 GS-MC 时他们用自己的嗅觉去感受变质肉的区别，虽然他们自己也说这是盲目的，但

是，这是一种乐趣，并且可以不断的探索，用更好的方法来得出结果，这是值得我们学习的地方。

很严密的，他们还讨论了这个 sticker 的安全问题，也就是细菌最后的处理问题，他们想到了使用某些色素对细菌的毒性，当色素生产之后就会自动杀死细菌，方法十分的巧妙，值得学习。

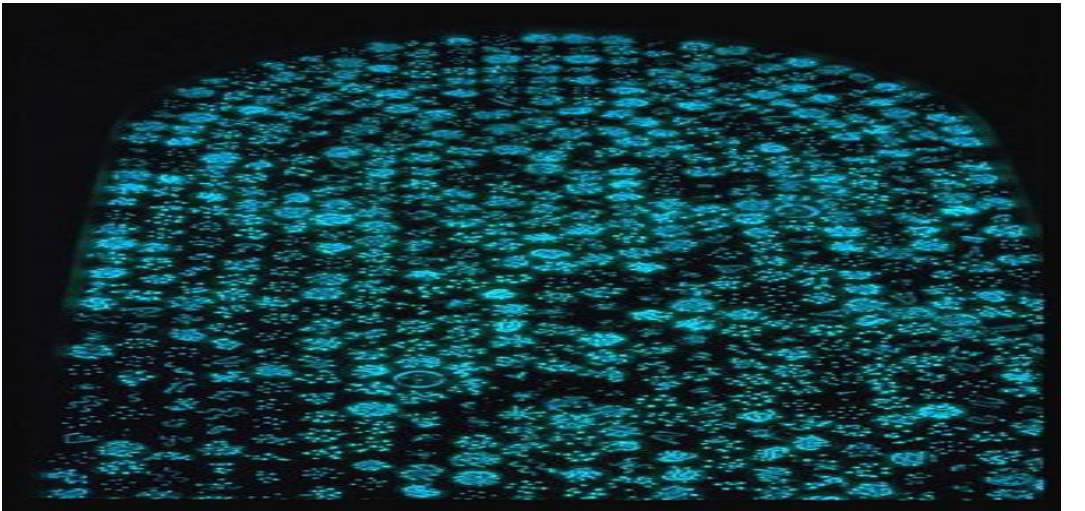
4.4 .剑桥大学的生物荧光 E.coli

背景：剑桥大学的 IGEM 团队把荧光基因从萤火虫和生物荧光细菌提取出来，并转给大肠杆菌。通过密码子优化和单一的氨基酸突变，他们可以使大肠杆菌产生明亮的光，并且有各种不同的颜色。他们的设计的未来应用主要包括定量生物传感器和生物选择性的常规照明方面，图是他们设计出的可以发光的 E.coli。他们的项目主要分为二个部分：萤火虫工程，弧菌工程。

一． 萤火虫项目

项目介绍：在整个项目中他们主要建造了一套“生物模块”，这样就可以使生物荧光技术很方便的应用于生物传感器以及普通照明方面。同时剑桥大学 IGEM 团体也开发了软件工具来帮助建造生物积木部件和设备。

萤火虫项目



他们主要采取了下列措施来扩展萤火虫荧光素酶的使用:

- 密码子优化提高发光量;
- 荧光素再生酶;
- 通过诱变创造许多不同的颜色。

二. 弧菌项目

由于在萤火虫系统中,需要添加底物荧光素,剑桥大学的 IGEM 团队从弧菌 fisheri 的荧光产生系统中提取出相关基因（可以看下图的 LUX 系统）加入到萤火虫的发光系统中。这样他们成功地创建了第一个使正常大肠杆菌菌株发荧光的生物模块，并且不用添加任何外部底物。

在工程中在他们广泛应用吉布森装配方法来制造相关的零件并且已经提交一个 RFC 到生物模块基金会来帮助未来的团队充分利用这种技术。